

VU Research Portal

Stof(fen) tot nadenken

Leonards, P.E.G.

2017

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Leonards, P. E. G. (2017). *Stof(fen) tot nadenken: van blootstelling naar effecten op moleculair niveau*. Vrije Universiteit Amsterdam.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Stof(fen) tot nadenken

van blootstelling naar effecten op moleculair niveau

Pim Leonards

*Meneer de Rector,
Meneer de Decaan,
Beste collega's, familie, vrienden en andere belangstellenden,*

Vandaag gaan wij een reis maken. Een reis die zal beginnen in uw woonkamer en die zal eindigen op het niveau van moleculen. Het zal een reis zijn waarin ik u meeneem in de wetenschappelijke wereld van chemische stoffen die in dagelijkse producten zitten maar die uiteindelijk ook in de mens en het milieu terecht kunnen komen. Hoe komen die stoffen vanuit die producten in de mens? U zou het misschien niet denken maar u wordt dagelijks blootgesteld aan allerlei chemische stoffen via uw voeding maar bijvoorbeeld ook via huisstof. Kunnen deze stoffen nadelige gezondheidseffecten veroorzaken? Wat zijn de moleculaire mechanismen achter deze effecten en hoe kunnen we schadelijke stoffen vervangen door minder schadelijke stoffen? Het zijn vragen die ik in de komende 40 minuten zal proberen te beantwoorden.

Mijn leerstoel heeft als titel gekregen: Environmental Bioanalytical Chemistry, oftewel Bioanalytische Milieuchemie. Het doel van de leeropdracht is om onderzoek te doen naar de blootstelling van de mens aan milieuverontreinigende stoffen en om de risico's daarvan in kaart te brengen. Belangrijk hierbij is om moleculaire methoden te ontwikkelen om de eventuele toxische effecten van stoffen te identificeren. In beide gevallen wordt gebruik gemaakt van analytische technieken om stoffen te meten. Mijn uiteindelijke drijfveer is het verder terugdringen van milieuvervuilende stoffen in de mens en het milieu.

In dit betoog zal ik een beeld schetsen van welke chemische stoffen in uw meubels en elektronica zitten en uiteindelijk voor een deel in uw huisstof terecht kunnen komen. Ik zal ook ingaan op de blootstelling van kinderen aan stoffen waar zij in het dagelijks leven mee in aanraking komen en over de effecten van deze blootstelling op hun gezondheid. Als laatste zal ik ingaan op de mogelijkheden om schadelijke stoffen te vervangen door minder schadelijke alternatieven.

HOOFDSTUK 1

PRODUCTIE VAN CHEMISCHE STOFFEN

De laatste honderd jaar is er veel veranderd op technologisch en industrieel gebied en daarmee hangt de ontwikkeling, productie en het gebruik van chemische stoffen nauw samen. De huidige maatschappij leunt voor een groot deel op door de mens gemaakte stoffen. Toepassingen worden mogelijk gemaakt door technologische ontwikkelingen die voor een groot deel weer samenhangen met de ontwikkeling van chemische stoffen zoals plastics, synthetische rubbers, additieven, stabilisatoren, etc. Hoe zou de wereld er uitzien zonder minerale brandstoffen, plastics, of bestrijdingsmiddelen? De maatschappij is afhankelijk geworden van deze stoffen die grote voordelen hebben en voorspoed hebben gebracht maar ook risico's met zich meedragen. Actueel zijn de discussies over de risico's van stoffen zoals bepaalde fluorverbindingen als PFOA, die in de omgeving van een fabriek worden gevonden en over stoffen die aanwezig zijn in rubberkorrels die gebruikt worden op kunstgrasvelden.

Wat weten we over de productie van chemische stoffen? Gedacht wordt dat er circa 340.000 stoffen wereldwijd in productie zijn waarvan ongeveer 70.000 stoffen in Europa commercieel worden geproduceerd. Het is echter onduidelijk hoeveel stoffen en welke stoffen precies in producten worden gebruikt. Hiermee wordt duidelijk hoe complex en uitdagend het onderzoek naar de blootstelling en effecten van stoffen op de mens en het milieu is.

HOOFDSTUK 2

STOF(FEN) IN DE WOONKAMER

2.1 Stoffen in huisstof

Ik wil u nu graag meenemen naar uw woonkamer. Stel, u bent in uw woonkamer en ik vraag u als onderzoeker om de meest stoffige hoek op te zoeken en het stof daar te verzamelen met een stofzuiger. Hartelijk dank voor het verzamelen van dit stof! Wij kunnen ons onderzoek beginnen. U vraagt zich nu misschien af wat wij dan onderzoeken.

Ons onderzoek richt zich op een aantal vragen. Ten eerste willen we graag weten welke chemische stoffen er in huisstof zitten en wat de gehalten van deze stoffen zijn. Ten tweede willen we weten of we daadwerkelijk worden blootgesteld aan deze stoffen. We willen ook weten hoe die stoffen eigenlijk in huisstof terechtkomen en of deze stoffen in huisstof een probleem zijn? Laten we eerst eens kijken hoe wij worden blootgesteld.

Een groot deel van u tijd, circa 85%, brengt u door in gebouwen waarvan circa 70% in uw woning (RIVM, 2017). Overdracht via stof in gebouwen blijkt één van de blootstellingsroutes van chemische stoffen te zijn voor de mens naast voedsel, lucht en huidcontact. Onderzoek toonde aan dat voor sommige stoffen de inname van huisstof een belangrijke bijdrage vormt van de dagelijkse blootstelling aan chemicaliën. Hele kleine hoeveelheden stof kunnen aan uw handen zitten en vervolgens via hand-mond contact opgenomen worden. Geschat wordt dat kinderen gemiddeld 30-60 mg stof per dag naar binnen krijgen. Kleine kinderen krijgen meer stof naar binnen dan volwassenen, omdat ze op de grond kruipen of spelen en vaak hun handen aflikken.

Maar ... hoe komen die stoffen uit onze producten nu in ons huisstof. Ik zal nu een aantal voorbeelden bespreken. Deze voorbeelden tonen aan dat we worden blootgesteld aan zeer grote aantallen stoffen en sommige stoffen komen ook in uitzonderlijk hoge gehalten in huisstof voor. Recente studies hebben laten zien dat

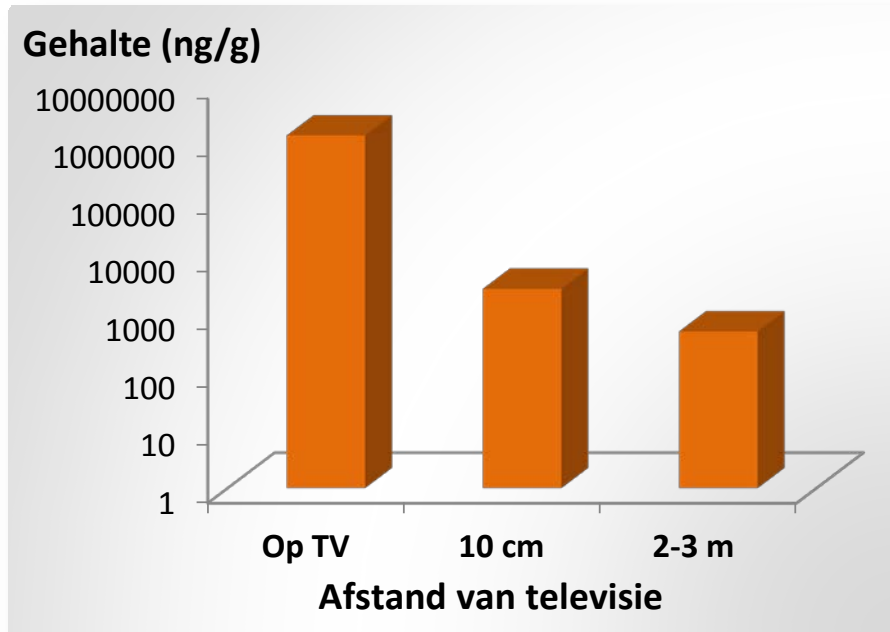
huisstof een belangrijke bron kan zijn voor de dagelijkse inname van chemische stoffen.

Veel van het huidige onderzoek in huisstof is gericht op de aanwezigheid van vlamvertragers. Vlamvertragers zijn stoffen die gebruikt worden om brandbare materialen te verhinderen vlam te vatten of om de brand te vertragen. Vlamvertragers worden toegepast in elektronica zoals televisies, computers en telefoons, maar kunnen ook in matrassen, kleding, bouwmaterialen, autobekleding, gordijnen of meubels zitten. Vlamvertragers hebben als voordeel dat ze levens en gebouwen kunnen redden. Helaas hebben sommige vlamvertragers ook nadelige effecten op mens en milieu. Sommige vlamvertragers zijn kankerverwekkend, hebben neurotoxische eigenschappen, of hebben effect op het endocriene systeem.

Hoe zouden die vlamvertragers uit onze producten in ons huisstof terecht kunnen komen? Vlamvertragers kunnen op verschillende manieren uit producten lekken, omdat veel van deze stoffen niet chemisch gebonden zijn maar vaak als additieven worden toegevoegd aan de materialen. Vlamvertragers die als additieven in plastics aanwezig zijn, zitten als een soort zandkorrels tussen de polymeervezels. Diverse internationale onderzoeken hebben aangetoond dat huisstof een goede vervoerder van chemische stoffen is. De stoffen kunnen op verschillende manieren uit het product komen en uiteindelijk in huisstof of de lucht terechtkomen. Ten eerste kunnen de stoffen naar de lucht verdampen, ten tweede kan het polymeermateriaal langzaam vergaan en kunnen kleine deeltjes ervan in het huisstof terecht komen. Een andere manier is de directe migratie van stoffen uit producten naar huisstof. Onderzoek uitgevoerd in Engeland en Japan heeft aangetoond dat directe migratie van stoffen in plastics naar huisstof kan plaatsvinden (Rauert and Harrad, 2015; Takigami et al., 2008). Dit betekent dus dat geregeld afstoffen het gehalte aan vlamvertragers in de huiskamer kan verlagen.

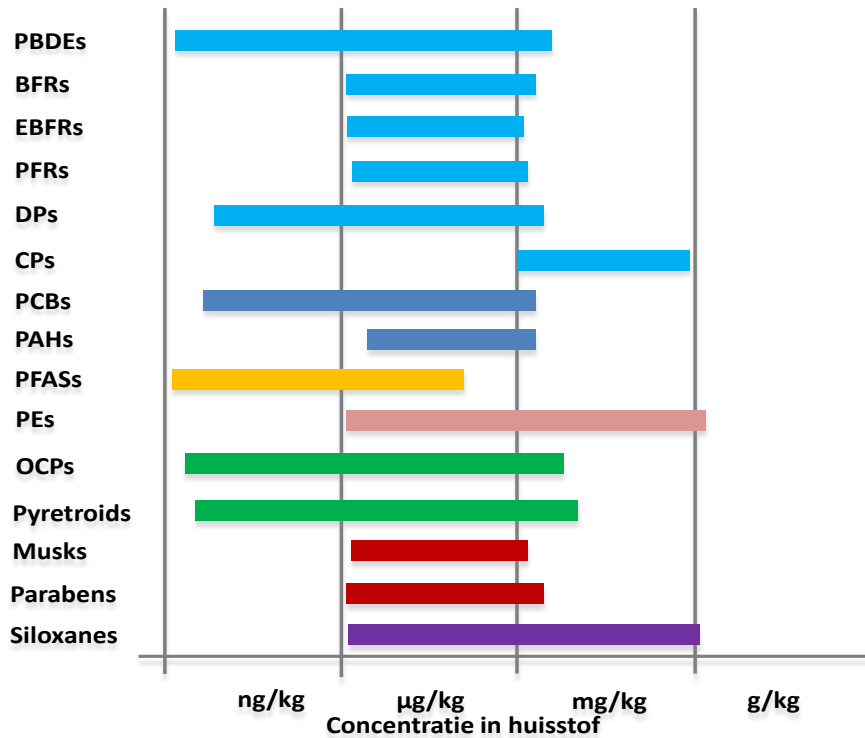
In verschillende internationale projecten zoals INFLAME, A-TEAM, ENFIRO en SHINE onderzoeken we welke vlamvertragers en ook andere stoffen in huisstof zitten, en of de stoffen uit producten migreren. Vooral de blootstelling aan gebromeerde vlamvertragers zoals PBDEs (polygebromeerde difenylethers) en diverse organofosfaat vlamvertragers werden onderzocht. In dit onderzoek werd huisstof verzameld op en rond elektronica omdat verwacht werd dat elektronische producten een bron waren voor vlamvertragers in het binnenmilieu. Het onderzoek toonde aan dat stof op elektronica circa 100 maal hogere gehalten aan fosforvlamvertragers kan bevatten dan stof bemonsterd rond de elektronica (Brandsma et al., 2013). Vooral de vlamvertragers BPA-BDPP en PBDPP, ik zal u de volledige chemische namen besparen, werden in het huisstof gevonden. Het onderzoek toonde het belang van elektronica als bron voor vlamvertragers in huisstof aan. In één huis werden bovengenoemde vlamvertragers niet aangetoond.

Echter nadat een oude televisie was vervangen door een flatscreen televisie werden beide vlamvertragers in stof op de TV en op 10 cm en 2-3 meter afstand van de televisie aangetoond. Er was een duidelijke afname in gehalte te zien verder weg van de televisie zoals in deze figuur aangegeven (Figuur 1). Dit laat zien dat een enkel product een bron kan zijn voor chemische stoffen in de huiskamer.



Figuur 1: Gehalte aan fosfor-vlamvertrager (BPA-BDPP) in huisstof op een televisie, 0.1 meter en 2-3 meter vanaf de televisie (verticale as logaritmische schaal) (Brandsma et al., 2013).

In huisstof zitten natuurlijk niet alleen vlamvertragers. In de literatuur zijn momenteel meer dan 400 stoffen in huisstof aangetoond. De gehalten van deze stoffen variëren van zeer lage gehalten van enkele nanogrammen per kilogram stof - een nanogram is een miljardste van een gram - tot zeer hoge gehalten van een gram per kilogram stof zoals u in deze figuur kan zien (Figuur 2). De hoogste gehalten werden gevonden voor weekmakers die in diverse plastic-achtige producten aanwezig zijn.



Figuur 2: Literatuuroverzicht van stoffen gevonden in huisstof (Lucattini in prep.). Minimale en maximale gevonden gehalten zijn weergegeven.

Om na te gaan wat voor stoffen er nog meer aanwezig zijn in huisstof, heeft promovenda Luisa Lucattini samen met buitenlandse onderzoekers huisstof verzameld in Nederland, het Verenigde Koninkrijk, Zweden, Noorwegen en Japan. De monsters werden geanalyseerd met diverse analytische technieken, waarbij de stoffen eerst gescheiden werden met behulp van chromatografie en vervolgens geanalyseerd met een hoge resolutie massaspectrometer. Een massaspectrometer is een instrument waarmee niet alleen het gewicht van een molecuul bepaald kan worden maar ook een soort vingerafdruk van de stof gemaakt kan worden. Deze informatie kan gebruikt worden om de identiteit van de stof vast te stellen. Met deze benadering werden meer dan 6000 verschillende verbindingen in huisstof aangetoond. Onder andere werden vlamvertragers, weekmakers, antioxidanten, stabilisatoren maar ook geneesmiddelen, verdovende middelen en pesticiden gevonden. U zult zich misschien afvragen hoe het mogelijk is dat medicijnen zoals cholesterolverlagers en ontstekingsremmers in huisstof zitten maar dat is te verklaren uit het feit dat huisstof voor een deel bestaat uit afgestorven huidcellen die resten van geneesmiddelen kunnen bevatten. Interessant is dat van de 6000 stoffen er maar 30% geïdentificeerd konden worden. Van de overige 70% weten we dus niet precies wat de chemische structuur is, laat staan of ze giftig zijn. Zoals u ziet zijn er voor ons als onderzoekers nog vele uitdagingen in het zoeken naar stoffen in stof.

2.2 Stoffen in producten en afval

We zijn er dus nu achter dat er heel veel chemische verbindingen in huisstof zitten. Als producten een bron kunnen zijn voor stoffen in het binnenmilieu, welke stoffen zitten er dan in die producten? Van veel producten en materialen is niet makkelijk te achterhalen welke stoffen zijn toegevoegd. De wetenschap zit echter niet stil en met hedendaagse analytische technieken zijn we steeds beter in staat om te achterhalen welke stoffen in producten en materialen zijn verwerkt. In ons lab is een methode ontwikkeld, de direct probe methode, om te achterhalen welke stoffen in producten aanwezig zijn (Ballesteros-Gómez et al., 2013). Een klein dun glazen staafje wordt over een product geschraapt en vervolgens direct gemeten met een hoge resolutie massaspectrometer. Binnen 1 minuut is het monster geanalyseerd. Op deze manier werden diverse additieven in plastics van elektronica-producten gevonden (Ballesteros-Gomez et al., 2016). Deze methode werd ook ingezet om stoffen in plastic afval of in gerecyclede producten te onderzoeken (Leslie et al., 2016). In 22% van het plastic afval van elektronica werden verboden persistente PBDE vlamvertragers gevonden die uiteindelijk in gerecyclede plastics terechtkwamen. In speelgoed dat gerecycled plastic bevatte werden soms ook verboden vlamvertragers aangetroffen, zij het binnen de Europese norm. Toch vind ik dat dit niet wenselijk is. De Europese regelgeving zou zo ingericht moeten zijn dat dergelijke stoffen niet in speelgoed kunnen terecht komen.

HOOFDSTUK 3

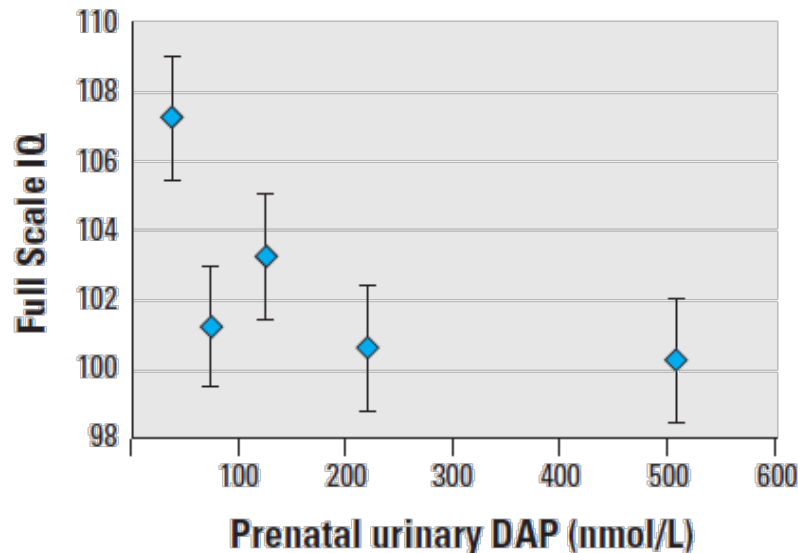
VROEGE BLOOTSTELLIG AAN LAGE CONCENTRATIES STOFFEN

3.1 Effecten van stoffen op kinderen

Tot nu hebben we het vooral over de blootstelling van stoffen gehad. Maar wat kunnen we zeggen over de effecten van stoffen op de mens. Wereldwijd zijn de laatste decennia steeds meer indicaties gevonden dat de blootstelling aan veel gebruikte moeilijk afbreekbare, ofwel persistente stoffen, zoals PCBs maar ook minder persistente stoffen zoals bisfenol-A, bestrijdingsmiddelen en weekmakers de risico's op ziekten en aandoeningen kunnen verhogen. Vooral de blootstelling aan stoffen tijdens kritische fases in het leven, zoals tijdens of vlak na de zwangerschap kunnen later in het leven mogelijk verhoogde risico's op ziekten en aandoeningen geven. Belangrijk om te melden is dat deze verbanden bij lage concentraties wereldwijd bij kinderen en volwassenen zijn gevonden. Ziekten, waarvoor verbanden met chemische stoffen zijn gevonden zijn diabetes (Lee et al., 2007, 2012), obesitas (Newbold 2010; Trasande et al. 2012), gedrags- en ontwikkelingsstoornissen (Grandjean and Landrigan 2006), hart- en vaatziekten (Lang et al., 2008; Lind et al., 2012) en kanker (Lauby-Secretan et al., 2013).

Ik wil nu iets dieper ingaan op de ontwikkeling en gedragsstoornissen die gerelateerd zijn aan de blootstelling van bepaalde neurotoxische stoffen. Recente studies suggereren dat verhoogde gehalten aan bepaalde bestrijdingsmiddelen, methyalkwik en andere stoffen zoals PCBs en PBDEs tijdens de zwangerschap of kort daarna een verhoogde kans geven op leer- en gedragsproblemen bij kinderen. Verschillende studies hebben verbanden gevonden tussen de gehalten van deze stoffen in de urine van de moeder of kind en een verhoogd voorkomen van aandoeningen zoals ADHD en autisme (Grandjean and Landrigan 2006; Rauh et al. 2006). Sommige van deze stoffen zijn al geruime tijd verboden maar er zijn genoeg andere stoffen die als verdacht zijn aangemeld. Vooral de organofosfaat pesticiden, zoals chloorpyrifos, zijn verdacht. Er zijn verbanden gelegd tussen de

afbraakproducten van de organofosfaatverbindingen in de urine van kinderen en de IQ score van kinderen (Bouchard et al. 2011). Daarnaast is een verband gelegd tussen genoemde stoffen en de kans op ADHD (Rauh et al. 2006). Als voorbeeld ziet u hier de afbraakproducten van organofosfaatverbindingen in de urine van Amerikaanse kinderen uitgezet tegen de IQ score van de kinderen (Figuur 3). U kunt zien dat bij een toenemend organofosfaatgehalte in de urine een daling in de IQ score wordt gevonden.



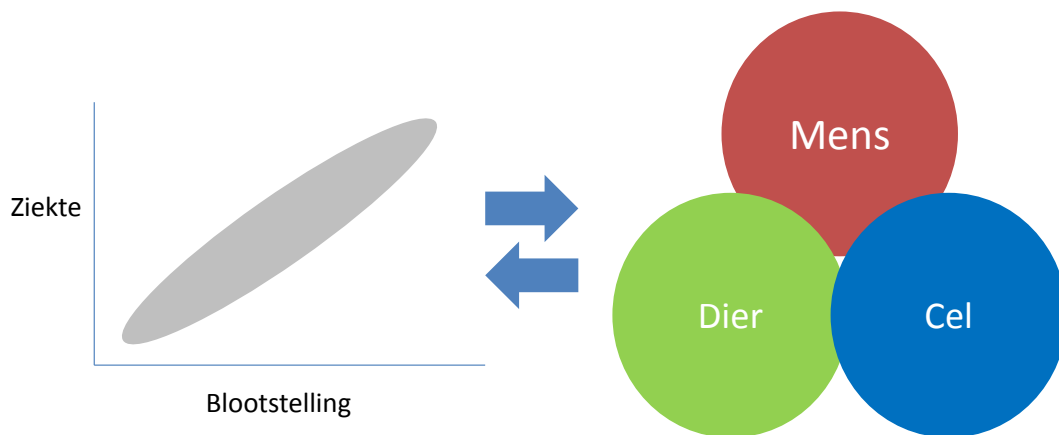
Bouchard et al., 2011, EHP, 119, 1189-1195

Figuur 3: Organofosfaat pesticiden residuen in de urine van kinderen en IQ score (Uit Bouchard et al., 2011).

3.2 Neurotoxische effecten bij kinderen en experimenteel werk met dieren/DENAMIC project

Bovengenoemde bevindingen waren voor de Europese Commissie aanleiding om een grootschalig onderzoek te laten uitvoeren naar de blootstelling en effecten van neurotoxische stoffen bij kinderen in Europa. Samen met 14 Europese onderzoeksinstituten en bedrijven hebben wij dit onderzoek, onder de naam DENAMIC, voor de EU uitgevoerd. DENAMIC richtte zich op de effecten van chemische stoffen (o.a. bestrijdingsmiddelen) waaraan de mens dagelijks in binnen- en buitenmilieu wordt blootgesteld. Voornamelijk de effecten van stoffen op kinderen en de mogelijke relatie met leerproblemen, ADHD en andere gedragsveranderingen werden onderzocht. Het doel was om er achter te komen welke stoffen effecten veroorzaken om uiteindelijk de blootstelling van deze stoffen te reduceren en daardoor een betere kwaliteit van leven te bewerkstelligen.

Een ander doel was om na te gaan of *lage gehalten* aan neurotoxische stoffen en *mengsels* van deze stoffen effecten hebben bij kinderen. Ook werden er testen en methoden ontwikkelen waarmee nieuwe stoffen beoordeeld kunnen worden op neurotoxiciteit. In het onderzoek werden bestrijdingsmiddelen uitvoerig onderzocht zoals de organofosfaten, carbamaten en pyrethroiden maar ook perfluorverbindingen zoals PFOA. Verder werden oude milieuverontreinigende stoffen zoals PCBs, PBDEs en een aantal organochloorpesticiden zoals DDT onderzocht. In totaal zijn meer dan 30 stoffen getest. Het onderzoek bestond uit drie delen waarbij we informatie van epidemiologisch onderzoek met kinderen en moeders combineerden met dier- en cel experimenten (Figuur 4).



Figuur 4: DENAMIC benadering om nadelige effecten van neurotoxische stoffen te achterhalen.

Een belangrijke vraag was of er een verband te vinden was tussen de blootstelling aan neurotoxische stoffen en ontwikkeling en gedragsstoornissen bij Europese kinderen. We wilden daarna de invloed van genoemde stoffen op leren en gedrag onderzoeken. Dit onderzoek werd uitgevoerd met dierstudies omdat gedrag en leren nog moeilijk te voorspellen zijn met cellen. Centrale vragen waren i) bij welk gehalte worden leer- of gedragsveranderingen waargenomen?, ii) zijn er verschillen tussen de blootstelling bij mannetjes of vrouwtjes dieren?, en iii) kunnen we op moleculair niveau de nadelige effecten op leren en gedrag begrijpen?

Het epidemiologisch onderzoek met moeders en kinderen uit Noorwegen, Spanje, Slowakije en Nederland toonde aan dat veel van de onderzochte neurotoxische stoffen aanwezig waren in moedermelk maar dat er grote verschillen waren in gehalten tussen de stoffen. De hoogste gehalten werden gevonden voor PCBs en DDE, maar ook organofosfaatverbindingen, pyrethroiden en perfluorverbindingen werden geregeld teruggevonden (Čechová et al., 2017; Forns et al., 2016). Carbamaten werden minder gevonden. Opvallend waren de relatief hoge gehalten aan de perfluorverbindingen PFOA en PFOS in navelstrengbloed.

Maar zijn er ook verbanden gevonden tussen de stoffen en gedragsveranderingen bij de kinderen? De Noorse studie liet een verband zien tussen DDT en toegenomen gedragsproblemen bij 1-jarige kinderen (Forns et al., 2016). Dit effect werd niet meer waargenomen op 2-jarige leeftijd. Verder werd er geen verband gevonden tussen chlorpyrifos en ADHD of autisme wat opvallend was, want juist voor deze stof is er wel een relatie gevonden met ADHD in Noord-Amerika. Mogelijk komt dit doordat de gehalten in Europa lager zijn dan in Noord-Amerika. Voor PFOA waren de resultaten wisselend. In sommige studies werd een verband gevonden (Quaak et al., 2016) en in andere studies niet (Forns et al., 2015).

3.3 Dierstudies

Laten we nu eens kijken wat er in dierstudies is gevonden. Een heel interessant experiment werd door Zweedse onderzoekers met muizen uitgevoerd. De muizen werden eenmalig blootgesteld aan een individuele stof of aan een mengsel van stoffen. Dat werd gedaan op een kritisch moment van hersenenontwikkeling. Dit is bij muizen op dag 10 na de geboorte, het moment waarop zich de zogenaamde brain growth spurt afspeelt. Het is het moment dat de hersenen een snelle groei en ontwikkeling doormaken. Interessant was dat de muizen normaal opgroeiden. Na 2 en 4 maanden werden er gedragstesten uitgevoerd. Wat nu opviel was dat bepaalde stoffen muizen hyperactief bleken te maken (Lee et al., 2015). Een belangrijke conclusie uit deze experimenten is dat een *vroege* eenmalige blootstelling kan leiden tot effecten *later* in het leven. Mengsels van de stoffen lieten soms nog een sterker effect zien (Lee et al., 2015).

Onderzoekers in Spanje deden een experiment met ratten en lieten een ander opvallend resultaat zien. De studies toonde geslachtafhankelijke effecten door de blootstelling. Ofwel, sommige effecten werden alleen bij mannetjes en sommige alleen bij vrouwtjes gevonden (Gómez-Giménez et al., 2017). Het waren effecten op gedrag, cognitieve of motorische eigenschappen. De geslachtafhankelijke effecten zijn erg interessant omdat ook gezondheidseffecten zoals ADHD bij de mens geslachtafhankelijk zijn. ADHD komt meer voor bij jongetjes dan bij meisjes.

3.4 Risico's van blootstelling aan stoffen bij kinderen

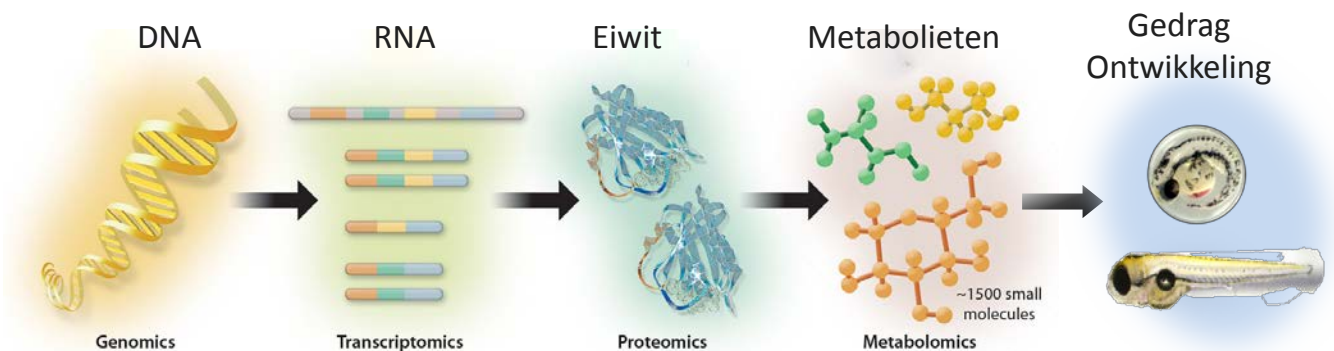
Als we nu de informatie van de blootstelling in de mens combineren met de effecten gevonden in experimenteel werk met dieren en cellen dan kunnen we meer zeggen over het risico van de stoffen. Op deze manier kan berekend worden of er een veiligheidsmarge zit tussen blootstelling en neurotoxische effecten. De veiligheidsmarge was voor een aantal bestrijdingsmiddelen voldoende zoals voor de carbamaten en pyrethroiden. Echter voor de bestrijdingsmiddelen chlorpyrifos en endosulfan en tevens methykwik was de veiligheidsmarge mogelijk niet groot

genoeg voor bepaalde groepen van de bevolking. Het betreft dan vooral het deel van de bevolkingsgroepen die hoger zijn blootgesteld. We kunnen daarom nadelige effecten op de volksgezondheid van hoger blootgestelde groepen niet uitsluiten. Het is daarom noodzakelijk om te onderzoeken of verdere maatregelen nodig zijn om de blootstelling te verminderen. Deze conclusie wordt ook getrokken in een recente publicatie waarbij de onderzoekers aangeven dat blootstelling aan stoffen een onderschatte bedreiging voor de gezondheid van de mens is (Suk et al., 2016).

HOOFDSTUK 4

MOLECULAIRE VERKLARING VAN EFFECTEN

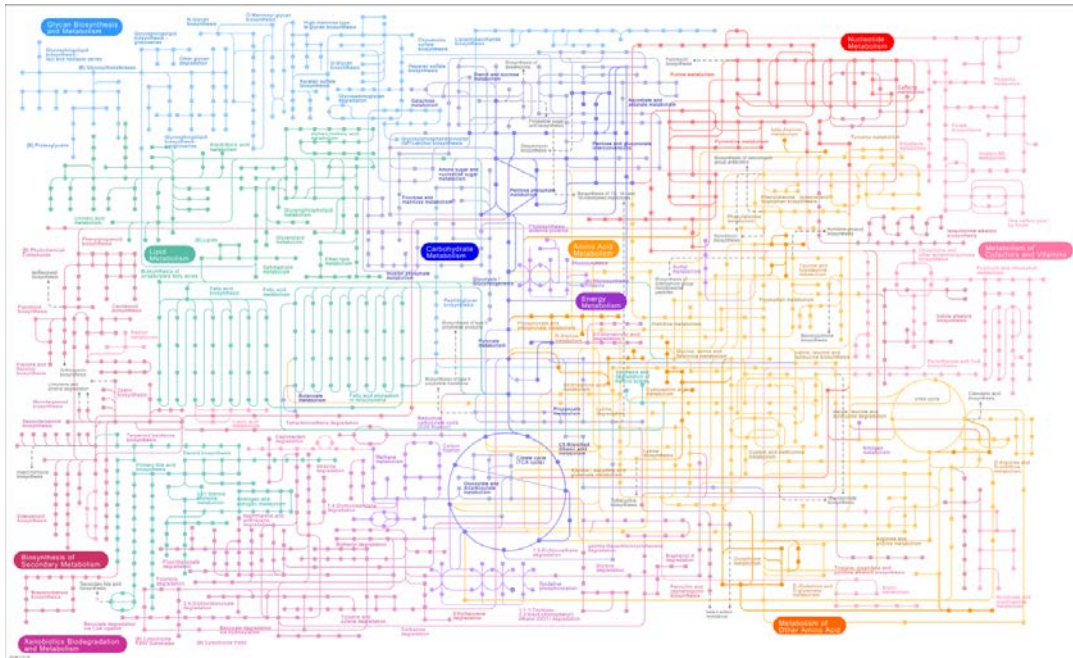
De laatste jaren heb ik een grote interesse ontwikkeld om de nadelige effecten van stoffen op moleculair niveau te verklaren. Wij proberen daarbij verbindingen te leggen tussen de *blootstelling* en de *effecten* van stoffen op gedrag, ontwikkeling en fenotypische kenmerken door dit op moleculair niveau te begrijpen. Kunnen we op moleculair niveau verklaren waarom bijvoorbeeld verschillen tussen mannetjes- en vrouwtjesratten werden gevonden? Waarom zien we hyperactieve muizen na blootstelling? Wat gebeurt er op moleculair niveau bij mengseltoxiciteit?



Figuur 5: Moleculaire processen via DNA naar RNA, naar eiwitten en uit eindelijk naar metabolieten die de link vormen met fenotype, gedrag, ontwikkeling etc. Figuur (Image Gallery Gateway) aangevuld met gedrag en ontwikkeling.

Onderzoek op moleculair gebied begint op het niveau van het DNA van een cel. Als het DNA wordt geactiveerd kan het via messenger RNA (mRNA) zorgen voor de productie van eiwitten. Uiteindelijk zal het eiwit bijbehorende chemische reacties veroorzaken waardoor metabolieten worden gemaakt. De metabolieten hebben een directe relatie met bijvoorbeeld gedrag, ontwikkeling maar ook met de verschijningsvorm van organismen.

Waar wij ons momenteel op richten bij ons onderzoek is het meten van een hele reeks van metabolieten die voorkomen in het lichaam, zoals suikers, vetten, aminozuren, neurotransmitters, vitaminen etc. Dit onderzoek wordt metabolomics genoemd. In uw lichaam zijn duizenden metabolieten actief die via enzymen omgezet kunnen worden in andere metabolieten. Een voorbeeld is de omzetting in de lever van suiker, glucose, naar glycogeen waardoor de bloedsuikerspiegel wordt verlaagd. Deze metabole routes vormen netwerken die specifieke functies vervullen zoals energielevering, het reguleren van vitaminen of hormonen, de suikerspiegel, etc. Zoals u in deze figuur kunt zien zijn er zeer veel metabolieten, de puntjes zijn metabolieten, en ook zeer veel routes (Figuur 6). De figuur is echter een simplificatie van de werkelijkheid waarin nog veel meer metabolieten en routes bestaan. Het illustreert hoe ingewikkeld, interessant en indrukwekkend deze processen zijn temeer daar deze processen zich continu in uw cellen afspelen.



Figuur 6: Gesimplificeerd netwerk van metabolieten in het lichaam. Ieder puntje geeft een metaboliet aan. De kleuren geven diverse functies van de metabolieten netwerken aan zoals energielevering, hormoon regulatie, aminozuur regeling etc. (KEGG hsa01100 Metabolic pathways).

Ik zal u nu twee voorbeelden geven van ons werk op moleculair niveau waarbij we metabolomics hebben ingezet om 1) het gedrag en leerproblemen na blootstelling bij ratten of muizen te verklaren, de DENAMIC studies, en 2) om bestrijdingsmiddelen op niet-doelsoorten te beoordelen.

Om te onderzoeken waarom juist de mannetjesratten en niet de vrouwtjesratten leerproblemen vertoonden na blootstelling aan bepaalde bestrijdingsmiddelen,

zoals een slechtere ruimtelijke oriëntatie, hebben we verschillende hersendelen onderzocht met een gerichte- en niet-gerichte metabolomics-benadering. Met ruimtelijke oriëntatie bedoel ik dat u vandaag deze zaal heeft gevonden en dat u morgen opnieuw deze zaal moet vinden. Vooral metabolieten die te maken hebben met neurotransmittersystemen werden onderzocht. Neurotransmitters zijn kleine moleculen die dienst doen om zenuwimpulsen door te geven tussen zenuwcellen. Zonder neurotransmitters zou u bijvoorbeeld u arm niet kunnen bewegen maar ze zijn ook essentieel bij het leerproces. De resultaten van het metabolomics onderzoek toonden aan dat het gehalte van één van de neurotransmitters, de zogenaamde GABA neurotransmitter, in de hersenen en dan specifiek in de hippocampus bij mannetjes lager was dan bij vrouwtjes. Juist deze neurotransmitter in de hippocampus speelt een belangrijke rol bij de ruimtelijke oriëntatie.

Het zijn deze en andere moleculaire bevindingen die bijdragen aan het bewijs dat stoffen daadwerkelijk ook gedragsveranderingen en leerproblemen in de mens kunnen veroorzaken.

Het tweede voorbeeld dat ik wil bespreken heeft ook te maken met neurotoxiciteit maar in dit geval betrof het onderzoek naar de effecten van bestrijdingsmiddelen op niet-doelsoorten. Met niet-doelsoorten bedoel ik soorten waar de bestrijding niet voor ontwikkeld was maar die uiteindelijk nadelige effecten ondervinden.

De laatste jaren is er veel discussie geweest over neonicotinoïden, stoffen die gebruikt worden voor de bestrijding van insecten. Deze middelen domineren een groot deel van de markt. Het is bekend dat deze middelen ook onbedoelde nadelige effecten veroorzaken bij niet-doelsoorten. In het promotiewerk van Sara Tufi, werden poelslakken blootgesteld aan milieurelevante gehalten van imidacloprid, één van de neonicotinoïden. De resultaten toonden aan dat een scala aan metabolieten en verschillende metabole routes werden beïnvloed en dat imidacloprid ontstekingen en letsel aan de zenuwcel kan veroorzaken (Tufi et al., 2015).

Deze voorbeelden tonen aan dat metabolomics gebruikt kan worden om beter te begrijpen hoe de toxiciteit werkt op moleculair niveau. Als we dit weten kunnen we ook minder schadelijke stoffen selecteren of ontwerpen en vervolgens gebruiken in producten.

HOOFDSTUK 5

HET VERVANGEN VAN SCHADELIJKE STOFFEN DOOR ALTERNATIEVEN

U heeft gezien dat wij worden blootgesteld aan stoffen, maar dat effecten pas optreden als de dosis hoog genoeg is, het principe van Paracelsus. Maar wat kunnen we nu doen om de blootstelling aan schadelijke stoffen te verminderen of te voorkomen?

Om na te gaan of geproduceerde stoffen geen nadelige effecten veroorzaken voor mens en milieu worden deze geëvalueerd. Dat gebeurt o.a. in het Europese REACH (Registratie, Evaluatie en Autorisatie van Chemische stoffen) programma. Het doel van dit programma is om de meest schadelijke stoffen te vervangen door minder schadelijke alternatieven. Het vervangen van stoffen is een ingewikkeld proces waarbij niet alleen gekeken wordt naar de risico's van de stof voor mens en milieu maar ook naar de technische haalbaarheid en toepasbaarheid van de stoffen in materialen en producten. Verder spelen kosten een belangrijke rol. Als de alternatieve stof vele malen duurder is dan de te vervangen stof zal deze minder snel gebruikt worden.

Diverse fabrikanten, zoals Samsung en HP, proberen schadelijke stoffen in consumentenproducten te vervangen. Sommige fabrikanten gebruiken hiervoor databases met gegevens over de giftigheid van stoffen zodat minder schadelijke stoffen geselecteerd kunnen worden. De druk en de gegevens die vanuit de wetenschap worden aangeleverd om stoffen te vervangen moet hierbij niet onderschat worden.

In de afgelopen jaren zijn wij bezig geweest met het zoeken naar alternatieven voor een aantal schadelijke vlamvertragers binnen het Europese ENFIRO project. Dit onderzoek werd uitgevoerd in samenwerking met een 12-tal wetenschappelijke instituten, het midden- en kleinbedrijf (mkb) en de industrie. We hebben met

succes aangetoond dat er een aantal minder schadelijke alternatieven beschikbaar zijn die in diverse toepassingen bepaalde schadelijke gebromeerde vlamvertragers kunnen vervangen. Uit het onderzoek is veel informatie verkregen over de risico's en de blootstelling aan de alternatieven. Dit was ook noodzakelijk omdat bij de start van het project weinig informatie over de giftigheid en persistentie van de alternatieve stoffen beschikbaar was. Dit lijkt vaker een probleem te zijn. In het project SUPFES, waar alternatieven voor bepaalde fluorverbindingen die gebuikt worden om jassen waterafstotend te maken, was er ook weinig informatie over de giftigheid van deze alternatieve stoffen voorhanden. Net als bij het vlamvertrager onderzoek, was ook hier een belangrijke conclusie dat sommige alternatieven niet altijd minder schadelijk zijn dan de te vervangen stoffen.

Wat ik geleerd heb van de substitutieprocessen is dat de technische prestaties van de alternatieve stoffen vanaf het begin mee genomen moeten worden. Eigenlijk zijn de technische prestaties leidend in het substitutieproces, want als alternatieve stoffen slechte technische prestaties leveren, vallen deze stoffen direct al af als alternatief. Ik vind dat er in het substitutieproces relatief veel aandacht gaat naar de schadelijkheid van de alternatieve stoffen en minder naar hoe stoffen vanuit materialen lekken en dus de blootstelling veroorzaken. Ik vind daarom dat er meer aandacht moet komen voor de wijze waarop stoffen uit producten kunnen migreren. Bovendien pleit ik ervoor om beter inzicht te krijgen in welke stoffen er precies in producten zitten.

Een belangrijke factor bij een succesvolle vervanging van schadelijke stoffen is de noodzaak van een team van deskundigen met diverse achtergronden. Niet alleen deskundigen op het gebied van het chemische gedrag, blootstelling en toxiciteit maar ook materiaal-, applicatie- en ketendeskundigen zijn nodig om een succesvolle substitutie mogelijk te maken. Ik zou pleiten voor een betere samenwerking tussen academici en bedrijven die de stoffen toepassen in producten en materialen. Cruciaal voor deze samenwerking is het vertrouwen dat we in elkaar hebben. In verschillende projecten zoals ENFIRO maar ook SUPFES hebben we laten zien dat dergelijke samenwerking van grote waarde kan zijn.

HOOFDSTUK 6

UITDAGINGEN EN TOEKOMSTIGE ONDERZOEKSLIJNEN

6.1 Uitdagingen

Waar liggen nu de uitdagingen om de risico's van stoffen beter in te schatten en de risico's te verminderen?

De komende decennia wordt een enorme toename van de wereldbevolking voorspeld waardoor een steeds grotere druk op grondstoffen zal ontstaan. We zullen daarom anders om moeten gaan met grondstoffen en meer moeten hergebruiken en recyclen. Europa heeft ingezet op een overgang van een lineaire economie naar een zogenaamde circulaire economie. In de circulaire economie worden grondstoffen zo lang mogelijk gebruikt door goederen en materialen opnieuw weer te gebruiken of te recyclen. Hergebruik en recycling van goederen en materialen is een goed streven. Echter, er wordt steeds minder stilgestaan bij de stoffen die zich in deze materialen bevinden. Zoals we hebben gezien kunnen gerecyclede producten namelijk ook stoffen bevatten die verboden zijn. Fabrikanten zouden daarom meer aandacht moeten hebben om hun stoffen door de keten te volgen.

Een grote uitdaging op het gebied van de risicobeoordeling ligt op het terrein van de blootstelling aan mengsels van stoffen. U heeft gezien dat wij worden blootgesteld aan een scala aan stoffen. Eigenlijk hebben we maar een zeer beperkt inzicht in het aantal stoffen waaraan we worden blootgesteld en wat de gevolgen zijn van deze gecombineerde blootstelling.

U heeft zich misschien afgevraagd of de inname van huisstof en de daarin aanwezige stoffen nadelige gevolgen kunnen hebben op uw gezondheid. Ik moet u het antwoord op deze vraag schuldig blijven, omdat er te weinig onderzoek is

verricht naar de giftigheid van de mengsels van stoffen die voorkomen in huisstof. Op dit vlak is er dus nog veel onderzoek te verrichten.

In dit betoog wil ik daarom benadrukken dat er meer onderzoek nodig is om de giftigheid van reële mengsels te testen. Dit zijn mengsels zoals die voorkomen in de mens doordat we dagelijks worden blootgesteld aan allerlei chemische stoffen. Reële mengsels zijn dus mengsels van stoffen in verhoudingen en gehalten zoals ze worden aangetroffen in de mens en het milieu. Gegevens over de gehalten in de mens zijn daarbij van groot belang. Deze zullen op grote schaal verzameld gaan worden in het pas gestarte HBM4EU Europese project. Ook een effect-gestuurde analyse (EDA) kan daarbij een hulp zijn waarbij de stoffen worden opgespoord die een bepaald toxisch effect veroorzaken.

Een grote uitdaging in de 21^{ste} eeuw zal zijn om de verbanden te achterhalen tussen het genoom, de eiwitten, de metabolieten en het in gang zetten van ziekten en aandoeningen door bijvoorbeeld blootstelling aan giftige stoffen. Steeds meer onderzoeken worden gepubliceerd waarin de koppeling tussen genoom, eiwit en metabolieten wordt bekeken. Voor dit type onderzoek zullen we beter moeten kijken wat er in de medische wereld gebeurt en bekend is.

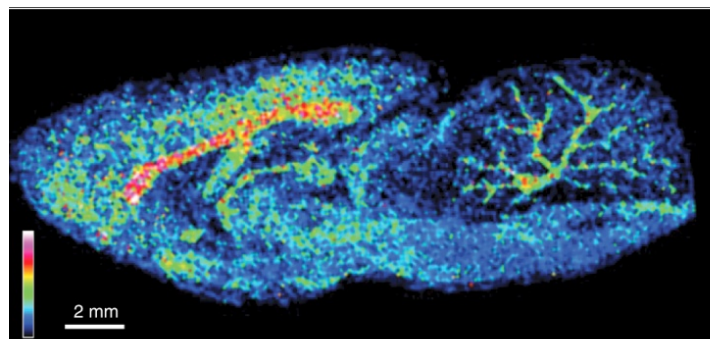
6.2 Toekomstige onderzoekslijnen

Aan het eind van dit betoog wil ik nog enkele van mijn onderzoekslijnen aanstippen waar ik meer nadruk op wil gaan leggen.

Ik heb u laten zien dat vroege blootstelling aan stoffen onomkeerbare effecten op de gezondheid kunnen geven. Toch is het voor veel stoffen en zeker ook voor mengsels van stoffen nog steeds niet duidelijk wat de gevolgen voor de gezondheid zijn en wat voor ziekten ze kunnen veroorzaken. Mijn uitdaging is om op moleculair niveau beter inzicht te krijgen in het verband tussen blootstelling aan chemische stoffen en ziekten, aandoeningen, gedragsveranderingen, en de ontwikkeling van organismen. Ik wil hierbij gebruik gaan maken van metabolomics maar ook imaging-technieken. Metabolomics en imaging zijn veelbelovende methoden om meerdere toxicologische en gezondheidseindpunten tegelijk te bestuderen. De technologische ontwikkeling in apparatuur maakt het mogelijk om steeds lagere gehalten aan metabolieten te detecteren in biologische materialen. Een uitdaging blijft het identificeren van deze metabolieten. Ondanks krachtige massaspectrometrische technieken is de identiteit van veel metabolieten niet bekend of moeilijk vast te stellen. In tegenstelling tot genomics waar het gehele humane genoom bekend is, weten we nog niet hoe het gehele metaboloom, de verzameling van alle metabolieten, eruit ziet. Een van de mogelijkheden om metabolieten beter te identificeren is het isoleren van een metaboliet door middel van fractionering met hoge resolutie vloeistofchromatografie. Zelfs twee

dimensionale vloeistofchromatografie, LCxLC, is nu beschikbaar om stoffen te fractioneren (Ouyang et al., 2016). In samenwerking met Bioanalytische Chemie van de VU hebben we de laatste jaren de fractioneringsmethoden verder ontwikkeld. Het is nu mogelijk om stoffen te isoleren met zowel vloeistof- als gaschromatografie (Pieke et al., 2013) in hoeveelheden die geschikt zijn voor structuuropheldering met NMR. Maar ook massaspectrometers met extreem hoge resolutie, zogenaamde FTICR-MS technieken, bieden mogelijkheden voor de identificatie van metabolieten. Deze techniek kan door zogenaamde isotoop-fijn-structuren informatie geven die zeer behulpzaam kan zijn bij het identificatieproces.

Diverse moleculaire imaging technieken, zoals massaspectrometrie imaging, zijn nu beschikbaar om de ruimtelijke verdeling van metabolieten vast te leggen. Je kunt op deze wijze dus een moleculaire kaart maken van weefsels. Ik wil hierop inzetten omdat het mogelijkheden geeft om de blootstelling direct te kunnen koppelen aan moleculaire effecten. Het wordt dan mogelijk om bijvoorbeeld de ruimtelijke verdeling van neurotransmitters in de hersenen van muizen of zebrafissen te bekijken en deze te relateren aan de blootstelling. In de figuur ziet u de ruimtelijke verdeling van een neurotransmitter, acetylcholine, in de hersenen van een rat. Dit onderzoek werd uitgevoerd door een aantal Zweedse onderzoekers (Shariatgorji et al., 2014). Een rode, gele en groene kleur geeft de gebieden in de hersenen aan waar grote hoeveelheid van deze neurotransmitter zijn gevonden. Op deze wijze kunnen we verbanden leggen tussen chemische blootstelling, metabolieten en het functioneren van organismen, anatomische structuren en de gezondheid. Ook bij deze techniek zijn er nog vele uitdagingen zoals het vergroten van het aantal metabolieten die kunnen worden gemeten. Daarvoor kunnen diverse ionisatietechnieken gebruikt worden zoals MALDI-TOF, DESI, en bijvoorbeeld LAESI. In de medische wereld worden deze technieken in combinatie met microscopie al gebruikt voor onder andere diagnostische doeleinden bij kanker. De moleculaire signalen kunnen dienst doen bij de diagnose of een prognose geven van ziekten.



Figuur 7: MALDI-MS beeld uit de publicatie van Shariatgorji et al. (2014) waarin de neurotransmitter acetylcholine is weergegeven in de hersenen van een rat (rood, geel en groen zijn verhoogde gehalten aan acetylcholine).

Bovenstaande schets geeft een beeld van de onderzoekslijnen waar ik op in wil zetten. Dit zijn onderzoeksvelden die ik graag verder wil uitbouwen met verschillende onderzoeksgroepen in het nieuwe VU O|2 gebouw maar ook daarbuiten. Er liggen voor ons als afdeling Environment & Health enorme kansen om samen te werken met de vele groepen in het O|2 gebouw die zich richten op Human Life Sciences. Ik kijk uit naar de samenwerkingen.

Slotopmerkingen

We moeten ons realiseren dat ondanks de blootstelling aan stoffen de mens toch steeds ouder wordt. Chemische stoffen hebben ons ook veel voordelen gebracht. Denk maar eens aan alle medicijnen. Maar er zijn ook ziekten die de laatste decennia zijn toegenomen. De ontwikkeling van ziekten wordt veroorzaakt door diverse factoren en de vraag is in hoeverre blootstelling aan stoffen daar een bijdrage aan levert. Er zijn steeds meer aanwijzingen dat er een verband is tussen blootstelling aan stoffen en bepaalde ziekten. Er is dus nog veel onderzoek nodig.

Ik wil gaan afsluiten en hoop dat ik u vanmiddag genoeg *stof* tot nadenken heb gegeven over *stoffen* die voorkomen in *stof*.

DANKWOORD

Aan het einde van mijn rede wil ik het College van Bestuur van de Vrije Universiteit en de leden van de Faculteit der Aard- en Levenswetenschappen bedanken voor mijn benoeming tot hoogleraar en voor het in mij gestelde vertrouwen. In het bijzonder wil ik de hooggeleerde Hubertus Irth en de hooggeleerde Jacob de Boer bedanken. Beste Jacob, jij zag al heel vroeg de potentie in mij om hoogleraar te worden. Ik citeer nu uit jouw oratie van 2005: “Zeergeleerde Leonards, beste Pim, zonder twijfel zul je ook een keer in dezelfde omstandigheden verkeren als ik op dit ogenblik”. Jacob, het is nu zover. Ik wil je ontzettend bedanken voor de kansen die je mij hebt gegeven, de prettige samenwerking, de vele dingen die ik van je heb geleerd en de vele mooie dingen die we samen hebben meegemaakt.

Onderzoek is alleen mogelijk in teamverband. Veel van het werk waar ik u in deze 40 minuten over heb verteld, was niet mogelijk geweest zonder de analisten en promovendi van ons laboratorium. Hartelijk dank voor jullie geweldige inzet en de prettige samenwerking. Jullie zijn een geweldig team. Zeergeleerde Marja Lamoree en zeergeleerde Timo Hamers, beste Marja en Timo, ik wil jullie hartelijk danken voor de vele jaren van prettige samenwerking en in het bijzonder het samen begeleiden van promovendi en het opzetten van nieuwe projecten. Zeergeleerde Sicco Brandsma en Ike van der Veen erg leuk om te zien hoe jullie gegroeid zijn en je plek hebben gevonden in de afdeling. En zo zijn er nog vele collega's waarmee het een genoegen is om samen te werken, het onderzoek op te zetten en uit te voeren. We zijn een geweldig team. Onze kracht is de goede samenwerking waardoor we zo veel bereikt hebben. Ex-G&Lers, ik ben zeer trots en blij dat wij samen met jullie de nieuwe afdeling Environment and Health zijn geworden. Er liggen grote kansen voor ons die we zeker gaan benutten.

Ik wil alle andere personen bedanken waar ik de afgelopen 25 jaar mee heb samengewerkt. Ik denk daarbij bijvoorbeeld aan het otteronderzoek samen met de zeergeleerde Bert van Hattum, maar ook aan alle fijne samenwerkingen in diverse Europese projecten.

In het bijzonder wil ik nog de hooggeleerde Udo Brinkman en hooggeleerde Nico van Straalen bedanken. Ik heb veel van jullie geleerd. Beste Udo, bedankt voor de kansen die je mij hebt geboden om mijn analytische kennis te verbreden, kennis die ik nog dagelijks gebruik. Daarnaast wil ik wijlen hooggeleerde Sjef Vos van het RIVM noemen. Hij betrok me actief in een Europees project om dat mee te helpen coördineren. Ik heb daarin veel van hem geleerd.

Ik ben heel blij en trots dat vandaag mijn ouders aanwezig zijn en dat jullie deze mooie dag mogen meemaken. Ma en pa, zonder jullie was ik nooit zo ver gekomen. Heel erg bedankt voor de mogelijkheden, kansen en vrijheid die jullie mij hebben gegeven.

Maaïke en Erik, het is heel bijzonder dat jullie hier vandaag aanwezig zijn. Ik ben heel trots op jullie om wie jullie zijn. Ik heb alle vertrouwen in jullie.

Dan is er nog de belangrijkste persoon in mijn leven, Wendy. Je bent mijn thuishaven, mijn grote steun en liefde. Zonder jou had ik dit nooit bereikt! Ik hoop dat we nog lang samen mogen zijn.

Ik dank u allen voor uw aandacht.

Ik heb gezegd.

REFERENTIES

- Ballesteros-Gómez A., de Boer J., Leonards P.E.G. 2013. Novel analytical methods for flame retardants and plasticizers based on gas chromatography, comprehensive two-dimensional gas chromatography, and direct probe coupled to atmospheric pressure chemical ionization-high resolution time-of-flight-mass spectrometry. *Anal Chem.*, 85, 9572-80.
- Ballesteros-Gomez, A.M. Jonkers, T., Covaci, A., de Boer, J. 2016. Screening of additives in plastics with high resolution time-of-flight mass spectrometry and different ionization sources: direct probe injection (DIP)-APCI, LC-APCI and LC-ion booster ESI. *Anal. Bioanal. Chem.*, 408, 2945-2953.
- Bouchard, M.F. Chevrier, J., Harley, K.G., Kogut, K., Vedar, M., Calderon, N., Trujillo, C., Johnson, C. Bradman, A., Barr, D.B., Eskenazi, B. 2011. Prenatal Exposure to Organophosphate Pesticides and IQ in 7-Year-Old Children. *Environ Health Perspect.* 119, 1189–1195.
- Brandsma, S.H., Sellstrom, U., Wit, C.A. de, Boer, J. de & Leonards, P.E.G. 2013. Dust Measurement of Two Organophosphorus Flame Retardants, Resorcinol Bis(diphenylphosphate) (RBDPP) and Bisphenol A Bis(diphenylphosphate) (BPA-BDPP), Used as Alternatives for BDE-209. *Environ Sci. Technol.*, 47 (24), 14434-14441.
- Čechová, E., Scheringer, M., Seifertová, M., Mikeš, O., Kroupová, K., Kuta, J., Forns, J., Eggesbø, M., Quaak, I., de Cock, M., van de Bor, M., Patayová, H., Palkovičová Murínová, L. & Kočan, A. 2017. Developmental neurotoxicants in human milk: Comparison of levels and intakes in three European countries. *Sci. Total Environ.* 579, 637-645.
- Forns, J., Iszatt, N., White, R.A., Mandal, S., Sabaredzovic, A., Lamoree, M., Thomsen, C., Haug L.S., Stigum, H., Eggesbø, M. 2015. Perfluoroalkyl substances measured in breast milk and child neuropsychological development in a Norwegian birth cohort study. *Environ Int.* 83:176-82.
- Forns, J., Mandal, S., Iszatt, N., Polder, A., Thomsen, C., Jan Lyche, L., Stigum, H., Vermeulen, R., Eggesbø, M. 2016. Novel application of statistical methods for analysis of multiple toxicants identifies DDT as a risk factor for early child behavioral problems. *Environ. Res.* 151, 91–100.
- Gómez-Giménez, B., Marta Llansola, M., Hernández-Rabaza, V., Cabrera-Pastor, A., Malaguarnera, M., Ana Agusti, A., Felipo, V. 2017. Sex-dependent effects of developmental exposure to different pesticides on spatial learning. The role of induced neuroinflammation in the hippocampus. *Food Chem. Toxicol.* 99, 135-148.
- Grandjean P., Landrigan P.J. 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 368, 2167-2178.

- Lang I.A., Galloway T.S., Scarlett A., Henley W.E., Depledge M., Wallace R.B., et al. 2008. Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA*, 300, 1303–1310.
- Lauby-Secretan B., Loomis D., Grosse Y., El Ghissassi F., Bouvard V., Benbrahim-Tallaa L., et al. 2013. Carcinogenicity of polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls. *Lancet Oncol.* 14, 287–288.
- Lee D.H., Lee I.K., Jin S.H., Steffes M., Jacobs D.R., 2007. Association between serum concentrations of persistent organic pollutants and insulin resistance among nondiabetic adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2002. *Diabetes Care* 30, 622–628.
- Lee D.H., Lind L., Jacobs D.R., Salihovic S., van Bavel B., Lind P.M. 2012. Associations of persistent organic pollutants with abdominal obesity in the elderly: the Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS) study. *Environ. Int.* 40, 170–178.
- Lee, I., Eriksson, P., Fredriksson, A., Buratovic, S., Viberg, H. 2015. Developmental neurotoxic effects of two pesticides: behavior and biomolecular studies on chlorpyrifos and carbaryl. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 288, 429–438.
- Leslie H.A., Leonards, P.E.G., Brandsma, S.H., de Boer, J. N Jonkers. 2016. Propelling plastics into the circular economy - weeding out the toxics first. *Environ. Intern.* 94, 230–234.
- Lind P.M., van Bavel B., Salihovic S., Lind L. 2012. Circulating levels of persistent organic pollutants (POPS) and carotid atherosclerosis in the elderly. *Environ. Health. Perspect.* 120, 38–43.
- Newbold R.R. 2010. Impact of environmental endocrine-disrupting chemicals on the development of obesity. *Hormones (Athens)* 9, 206–217.
- Quaak I., de Cock M., de Boer M., Lamoree M., Leonards P., van de Bor M. 2016. Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Substances and Behavioral Development in Children. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13, 1–20.
- Ouyang, X., Leonards, P.E.G., Tousova, Z., Slobodnik, J., de Boer, J., Lamoree, M.H. 2016. Rapid screening of acetylcholinesterase inhibitors by effect-directed analysis using LC×LC fractionation, a high throughput in vitro assay, and parallel identification by time of flight mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 88, 2353–2360.
- Pieke, E., Heus, F.A.H., Kamstra, J., Mladic, M., Velzen, M. van, Kamminga, D., Lamoree, M.H., Hamers, T., Leonards, P.E.G., Niessen, W.M.A. & Kool, J. 2013. High-resolution fractionation after gas chromatography for Effect Directed Analysis. *Anal. Chem.*, 85, 8204–8211.
- Rauh V.A, Garfinkel R., Perera R., Andrews H., Hoepner, L., Barr, D.B., Andrews, H.F., Hoepner L., Barr, D.B., Whitehead, R.W., Tang, D., Whyatt, R.W. 2006. Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the

- first three years of life among inner-city children. *Pediatrics*, 118, e1845–e1859.
- Rauert C., Harrad S. 2015. Mass transfer of PBDEs from plastic TV casing to indoor dust via three migration pathways - A test chamber investigation. *Sci Total Environ.*, 536:568-74.
- RIVM. 2017. Binnenmilieu, <http://www.rivm.nl/Onderwerpen/B/Binnenmilieu>.
- Shariatgorji M., Svenningsson, P., Andrén, P.E. 2014. Mass Spectrometry Imaging, an Emerging Technology in Neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharm.* 39, 34-49.
- Suk W.A., Ahanchian H., Ansong Asante K., Carpenter D.O., Diaz-Barriga F., Ha E.H., Huo X., King M., Ruchirawat M., da Silva E.R., Sly L., Sly P.D., Stein R.T., van den Berg M., Zar H., Landrigan P.J. 2016. Environmental pollution: an under-recognized threat to children's health, especially in low- and middle-income countries. *Environ Health Perspect.* 124, A42–A45.
- Takigami, H., Suzuki, G., Hirai, Y., Sakai, S.I., 2008. Transfer of brominated flame retardants from components into dust inside television cabinets. *Chemosphere* 73, 161–169.
- Trasande L., Attina T.M., Blustein J. 2012. Association between urinary bisphenol A concentration and obesity prevalence in children and adolescents. *JAMA*, 308, 1113–1121.
- Tufi, S., Stel, J.M., de Boer, J., Lamoree, M.H., Leonards, P.E.G. 2015. Metabolomics to explore imidacloprid-induced toxicity in the central nervous System of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. *Environ. Sci. Technol.* 49, 14529–14536.